全自动酶联免疫分析仪检测乙肝核心抗体的加样质量控制*

张 龙¹, 银广悦¹, 武彩虹¹, 王 辉², 张朝云³ (中国石油中心医院: 1. 检验科; 2. 急诊科; 3. 内分泌科, 河北廊坊 065000)

【摘要】 目的 选择 TECAN 全自动酶联免疫分析仪检测乙肝核心抗体(HBcAb)的理想检测程序。**方法** 对同一样本设置不同的加样方式、加样顺序, 获得相应的数据, 比较检测结果以确定理想检测程序。**结果** TECAN 全自动酶联免疫分析仪检测 HBcAb, 加样针存在拖带现象, 可能造成标本污染, 出现假阳性结果, 或污染阴性对照, 使 CO 值降低, 造成假阴性结果。通过改进加样程序, 减少携带概率, 避免阴性对照污染, 提高检测质量。**结论** 用单独加样方式, 先加阴阳对照再加标本的顺序为理想的检测程序。

【关键词】 乙肝核心抗体; 全自动酶联免疫分析仪; 质量控制

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2015. 16. 017 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)16-2342-02

Quality control of adding sample on HBcAb by automatic enzyme immunoassay instrument* ZHANG Long¹, YIN Guang-yue¹, WU Cai-hong¹, WANG Hui², ZHANG Chao-yun³ (1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Emergency; 3. Department of Endocrinology, Central Hospital of China National Petroleum Corporation, Langfang, Hebei 065000, China)

【Abstract】 Objective To select the ideal examination program of the TECAN automatic enzyme immunoassay instrument for detecting HBcAb. **Methods** The different adding modes and adding sequences were set on the same sample for obtaining the corresponding data. **Results** In detecting HBcAb by the TECAN automatic enzyme immunoassay instrument, adding sample needle had the entrainment phenomenon, which could cause the sample contamination, thus led to false positive results or contaminated the negative control to make the CO value decrease and cause the false negative result. The improvement of adding sample program reduced the carrying probability, avoided the negative control pollution and increased the detection quality. **Conclusion** Adopting the single adding sample mode, and first adding negative and positive control and then sample are the ideal detection program.

【Key words】 HBcAb; automatic enzyme immunoassay instrument; quality control

乙肝核心抗原(HBcAg)的强抗原性使接触过或感染乙肝的人群产生大量的乙肝核心抗体(HBcAb), HBcAb 阳性提示此人有过乙肝(HBV)接触史。TECAN 全自动酶联免疫分析仪可以完全代替手工, 具有加样准、速度快等优点, 但目前仪器加样系统大多采用的是非一次性的 Teflon 涂层钢针, 当遇到强阳性标本时, 由于加样针未能进行彻底洗涤, 导致了后一孔甚至多孔加样拖带阳性现象, 甚至污染后面标本, 使之出现假阳性结果^[1-3]。目前样本拖带污染问题日益受到广泛关注。本研究旨在改进 TECAN 全自动酶联免疫分析仪的加样程序, 提高 HBcAb 的检测质量^[4]。

1 材料与方 法

1.1 材料来源 选取 2014 年 4 月中国石油中心医院乙肝患者血清 20 份, HBcAb 为强阳性, OD 值在 0~0.001 之间, 每份标本后面对应的同一根针加样标本 OD 值偏低, 怀疑有加样针携带污染情况, 标本无溶血、无脂血、无黄疸, 每份标本不少于 2 mL, 阴性标本使用试剂自带阴性对照, 批号相同。

1.2 仪器与试剂 TECAN 全自动酶联免疫分析仪, 型号 DK-1504。乙肝病毒表面抗原 ELISA 诊断试剂盒(英科新创, 批号 2013075509)。

1.3 方法 将收集的阳性标本制作成混合血清, 分成 7 组, 定

为 P 组, 每组 4 个; 试验所用的阴性对照批号相同, 编为 A1 组、A2 组、B1 组、B2 组。具体方法如下: (1) 方法 A 为仪器标本位上 1~4 号为试剂自带阴性对照组(A1 组), 5~8 号为 P 组标本, 9~12 号为试剂自带阴性对照组(A2 组), 13~16 号位放 P 组标本, 17~20 号为试验组 A2, 21~23 号位分别为阳性对照、阴性对照、空白孔。(2) 方法 B 为仪器标本位上 1~4 号试剂自带阴性对照 B1 组作为对照组, 5~8 号位放 P 组标本, 9~12 号为试剂自带阴性对照 B2 组作为试验组, 13~16 号位放 P 组标本, 17~20 号位不放标本, 在加样时将 B2 组倒过来, 21~24 号位放 P 组标本, 25~28 号位不编标本, 在加样时再将 B2 组倒过来, 29~31 号位分别为阳性对照, 阴性对照, 空白孔。2 次试验均模拟日常乙肝 5 项检验, 先将稀释液(生理盐水)290 μ L 加入 HBcAb 试剂微孔板中, 加 10 μ L 血清进行 1:30 倍稀释, 并与其余 4 项同时加样, 即吸一次血清 5 项全加完, 然后再从 HBcAb 试剂微孔中吸出 250 μ L 已稀释血清, 剩余 50 μ L。(3) 方法 C 为标本编排同方法 A, 试验顺序变为 HBcAb 单独加样, 其他 4 项同时加样, 且阴阳对照提至加标本之前。

1.4 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件进行数据处理及统计学分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 以 $\alpha =$

* 基金项目: 河北省廊坊市科技局项目(2013013020C)。

作者简介: 张龙, 男, 主管检验师, 本科, 主要从事医学检验质量控制方面的研究。

0.05 为检验水准, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 方法 A 观察加样针的携带现象, 所用酶联免疫分析仪有 4 根针, 1~4 号标本作为对照组, 后面每 4 个阳性标本后跟着 4 个阴性对照作为试验组, 结果均值为 2.192, 结果明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 方法 B 观察加样针的污染现象, 1~4 号作为对照组, 后面每加 1 次阳性对照, 加样针接触 1 次阴性对照, 共接触 3 次, 结果均值为 1.741, 明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.3 3 种方法试验结果对比 方法 C 作为纠正后加样方案, 阴性对照组结果没有明显变化。方法 A 评价单次吸样阳性标本对后面标本或阴性对照的污染和拖带现象。方法 B 是多次吸样阳性标本, 多次接触阴性对照, 是对阴性对的污染情况评价。方法 C 与前两次试验作比较, 评价调整加样程序对结果的影响。见表 1。

表 1 3 种方法试验结果对比表(OD)

分组	方法 A	n	方法 B	n	方法 C	n
阳性标本	0.002±0.004	24	0.002±0.004	28	0.002±0.004	24
对照组	3.206±0.15	12	3.206±0.15	12	3.206±0.15	12
试验组	2.192±0.373 [△]	8	1.741±0.281 [△]	12	3.058±0.226	8

注: 与对照组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

3 讨 论

HBcAb 是病毒刺激肝细胞产生的一种免疫球蛋白, 它是感染病毒后最早呈阳性, 也是最晚转阴性的一项, 其阳性不仅代表乙肝接触史, 也可能是隐性乙肝病毒感染后的一种表现, 由于 HBcAb 并不作为诊断指标, 往往 HBcAb 阳性标本不被复查, 一直以来 HBcAb 的阴性对照稳定性很差, 尤其是不及时更换阴性对照情况下, 时常阴性对照 OD 值明显下降, 而此 OD 值直接用来计算 CO 值, 其结果对于 HBcAb 滴度低的标本造成假阴性结果。

HBcAg 的强抗原性, 使既往接触史人群或乙肝患者人群产生大量的 HBcAb, 而且目前试剂的灵敏度能达到纳克水平, 很可能造成全自动酶免疫的加样携带现象, 已有文献报道加样针污染标本的情况。虽然酶联免疫分析仪加样针有特殊涂层, 能有效地防止挂液现象, 但大多医院只用去离子水清洗钢针,

一旦遇到高滴度标本或高黏度样本时, 加样针往往不能冲洗干净, 从而造成携带现象^[5]。仪器在加样过程中, 为了加样量的准确, 吸样完成后再吐出部分标本, 并且随着钢针被重复使用次数的增加, 其内壁可能吸附蛋白质或脂质等污物, 这样携带的残留直接污染下一标本, 方法 A、方法 B 中的试验组标本明显已被污染, 而且接触阳性标本次数越多污染越严重^[6-7]。

综上所述, HBcAb 在日常检测中的质量难以保证, 以往, 检测乙肝 5 项一般是 5 项平行加样, 加样针内吸样至少 235 μL , 虽然加样针内部经过了特殊处理, 单靠去离子水仍然难以彻底清洗干净; 改变流程后, 单加 HBcAb, 吸样 10 μL 就可以, 很大程度减少了标本与加样针内部的接触面积, 也就减少了残留, 降低了加样针携带概率。阴阳对照调整为先加, 这样可以避免加样针对阴性对照的污染, 确保 CO 值的准确、稳定, 由此, 用 TECAN 全自动酶联免疫分析仪 DK1504 检测乙肝 5 项中的 HBcAb, 方法 C 是较为理想的工作程序。

参考文献

- [1] 柯苑, 马成平, 赵静. 抗-HIV 抗体检测时出现拖带污染分析[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(6): 480-481.
- [2] 胡成义, 刘洋. 全自动酶免仪结果污染因素的分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(10): 940-943.
- [3] 蒋国瑾. ELISA 法检测梅毒抗体拖带阳性现象分析[J]. 浙江实用医学, 2004, 9(5): 375-376.
- [4] Armbruster DA, Alexander DB. Sample to sample carryover: a source of analytical laboratory error and its relevance to integrated clinical chemistry/immunoassay systems[J]. Clin Chim Acta, 2006, 373(1/2): 37-43.
- [5] 王平, 陈忠. 高黏度样品影响全自动生化分析仪加样系统的试验探讨[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(4): 216-218.
- [6] 朱安友. 全自动酶免分析仪加样中拖带阳性的解决方法探讨[J]. 蚌埠医学院学报, 2010, 35(8): 817-818.
- [7] 张悦, 陈娟. ELISA 法检测抗-HIV 强阳性拖带现象分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(6): 750-752.

(收稿日期: 2015-01-25 修回日期: 2015-04-15)

(上接第 2341 页)

et al. Serum concentrations of cytokines and lung cancer survival in African Americans and Caucasians[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2009, 18(1): 215-222.

- [11] 王振元, 张林, 王者生, 等. 白细胞介素-8 在肺癌中表达的临床意义[J]. 中华肿瘤杂志, 2002, 24(2): 159-162.
- [12] 龙发, 王达安, 李菁, 等. 肺癌患者单核细胞趋化蛋白-1 含量及其活性的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(8): 1569-1571.
- [13] Motohashi S, Nagato K, Kunii N, et al. A phase I-II study of α -galactosylceramide-pulsed IL-2/GM-CSF-cultured peripheral blood mononuclear cells in patients with advanced and recurrent non-small cell lung cancer[J]. J Immunol, 2009, 182

(4): 2492-2501.

- [14] 李晓宇, 何兴祥. 炎症与肿瘤的关系研究进展[J]. 广东医学, 2006, 27(9): 1427-1428.
- [15] Braun B, Lange M, Oeckler R, et al. Expression of G-CSF and GM-CSF in human meningiomas correlates with increased tumor proliferation and vascularization[J]. J neuro-oncol, 2004, 68(2): 131-140.
- [16] Ohta M, Kitadai Y, Tanaka S, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 expression correlates with macrophage infiltration and tumor vascularity in human gastric carcinomas[J]. Int J Oncol, 2003, 22(4): 773-778.

(收稿日期: 2015-01-25 修回日期: 2015-03-15)